

金属プローブを利用した腎臓内ウランの細胞選択的蛍光X線分析 Cell-selective XRF of uranium in kidney with metal probe

武田 (本間) 志乃^a、井上美幸^a、上野俊治^b、西村まゆみ^a、島田義也^a、寺田靖子^c

Shino Homma-Takeda^a, Miyuki Inoue^a, Shunji Ueno^b, Mayumi Nishimura^a,

Yoshiya Shimada^a, and Yasuko Terada^c

^a放射線医学総合研究所、^b北里大学獣医畜産学部、^cJASRI

^aNational Institute of Radiological Sciences,

^bSchool of Veterinary Medicine & Animal Sciences, Kitasato University,

^cJASRI

ウランは腎障害を引き起こすことが知られている。しかしながら、腎臓内のウラン挙動に関する情報は限られており、標的細胞における量-反応関係はよく理解されていない。本研究では、アポトーティック細胞におけるウラン分析を行うため、高エネルギー領域シンクロトン放射光蛍光 X 線分析 (SR-XRF) と金属プローブを用いた免疫組織化学染色の組み合わせ手法を試みた。金属プローブを用いることにより、目的細胞に照準を合わせた点分析を正確に行うことが出来た。

Renal toxicity is the hallmark effect of uranium exposure. The data of uranium dynamics in kidney have been limited and the dose-response relationship in toxic target of uranium has not been well understood. In the present study, we attempted to perform a combination method of synchrotron radiation X-ray fluorescence (SR-XRF) imaging and immunohistochemical staining to determine the presence of uranium in apoptotic cells selectively. The use of metal probe for immunohistochemical staining enables us to perform cell-selective XRF spot analysis with good accuracy of beam position.

Keywords: Uranium; Kidney; Imaging.

はじめに

近年、劣化ウラン汚染の問題を背景にウランの健康影響に対する関心が高まっている。ウランの標的臓器として腎臓が知られているが、腎臓内のウラン挙動と組織影響との関係は十分に理解されていない。本課題では、シンクロトン放射光蛍光 X 線分析 (SR-XRF) と免疫組織化学染色とを組み合わせ、ダメージ細胞におけるウランの細胞選択的な測定を

試みた。すなわち、ニッケル標識の terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL) を行い、アポトーシスを起こした細胞をニッケルの SR-XRF イメージングにより検出し、その細胞におけるウランをナノビーム SR-XRF により測定した。

実験

Wistar 系雄性ラット（10 週齢）にウランを 1.5 mg/kg as uranium の割合で背部皮下に一回投与した。投与後径時的に屠殺して腎臓を摘出した。まず腎臓切片（6 μm ）を TUNEL 染色し、陽性細胞をニッケルで標識した。次いでポリプロピレン薄膜に付着して SR-XRF 測定試料とした。隣接試料を用いてウラン濃度を誘導プラズマ結合質量分析（ICP-MS）により測定した。

高エネルギー領域 SR-XRF は BL37XU の蛍光 X 線測定システムを用いて行った。試料からの蛍光 X 線の検出には Si (Li)-SSD を用い、大気中で測定した。

結果および考察

ウラン投与 3 日後には、黒く染色されたアポトーティック細胞が腎臓皮質内辺部および髄質外辺部の近位尿細管に認められた（Fig. 1A）。アポトーティック細胞を含む領域についてニッケルの SR-XRF イメージングを行ったところ、アポトーティック細胞に対応してニッケルが濃集していた（Fig. 1B）。ウランの蓄積はアポトーティック細胞の方がアポトーシスを起こしていない細胞よりも高かった（Fig. 1C and D）。これらの結果より、ウランの選択的な蓄積が腎臓損傷の引き金となっていることが考えられた。

今後の課題

腎臓のウラン挙動と腎毒性との関係をさらに詳細に調べていくためには、尿細管細胞の種類を把握した上で、ウラン分布とダメージを検討する必要がある。金属プローブを用いた染色手法とナノビーム SR-XRF の組み合わせ

手法は微細な腎臓構造に対応した細胞選択的なウラン分析を容易にすることから、今後本手法の応用が期待できる。

論文等発表状況

[1] 武田志乃、井上美幸、上野俊治、西村まゆみ、島田義也：新生ラットにおけるウランの腎への影響。第 35 回日本トキシコロジー学会学術年会 東京 2008.6.27.

[2] Homma-Takeda S, Terada Y, Nakata A, Sahoo SK, Yoshida S, Ueno S, Inoue M, Iso H, Ishikawa T, Konishi T, Imaseki H, and Shimada Y.: Elemental imaging in kidney of adult rats exposed to uranium acetate. The 11th International Conference on Nuclear Microprobe Technology and Applications, Debrecen -HUNGARY, 2008.7.21

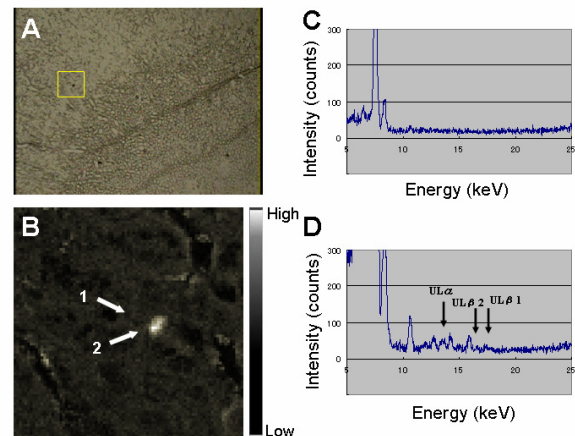


図 1 ウランをばく露したラット腎臓の細胞選択的なウランの検出。

(A) TUNEL 染色をした腎臓切片。アポトーティック細胞が黒く染色されている；(B) (A) の四角で囲まれた領域におけるニッケルの SR-XRF イメージング；(C) 矢印 1 における SR-XRF 点分析；(D) 矢印 2 における SR-XRF 点分析。SR-XRF 点分析は以下の条件で行った。励起 X 線エネルギー、30 keV；ビームサイズ、1 μm^2 ；計数時間、600 秒。この腎臓試料中ウラン濃度は 16.0 $\mu\text{g/g}$ であった。